

VALUTAZIONE DELL'UTILITÀ DEL LEUCOGRAMMA, FIBRINOGENEMIA ED ESAME ECOGRAFICO DEL TORACE NELLA DIAGNOSI PRECOCE DELLA RODOCOCCOSI NEL PULEDRO

WBC COUNT, PLASMATIC FIBRINOGEN CONCENTRATION
AND THORACIC ULTRASOUND IN THE EARLY DIAGNOSIS OF
RODOCOCOSIS IN FOALS

MICAELA SGORBINI ⁽¹⁾, ROBERTA PETTI ⁽²⁾, PAOLA MARMORINI ⁽²⁾,
GIACOMO ROSSI ⁽³⁾, MARCO BIZZETI ⁽⁴⁾, MICHELE CORAZZA ⁽⁴⁾

RIASSUNTO

La Rodococcosi è una malattia che colpisce il cavallo ed altri mammiferi compreso l'uomo. Il batterio è un coccobacillo immobile, Gram+, asporigeno, aerobio obbligato, tellurico, coprofilo ed è un patogeno intracellulare facoltativo, con la capacità di vivere nei macrofagi alveolari inibendo la fusione del fagosoma con il lisosoma. Si sviluppa molto velocemente nelle feci equine e i puledri si infettano in particolare per via aerogena quando il batterio è disperso in aerosol. Le manifestazioni cliniche nei puledri che arrivano a sviluppare la polmonite piogranulomatosa sono paucisintomatiche e gli ascessi non sono facilmente rilevabili con la visita fisica, ma ben evidenziabili attraverso l'esame radiografico ed ecografico del torace. Scopo della presente indagine è stato quello di verificare l'attendibilità di alcuni esami di laboratorio e dell'esame ecografico delle pleure nella diagnosi di Rodococcosi del puledro.

Lo studio è stato condotto durante le stagioni riproduttive 2004-2005, durante le quali sono stati esaminati 25 puledri tra i 3,5 e i 5,5 mesi. I soggetti sono stati controllati regolarmente con l'esame obiettivo particolare dell'apparato respiratorio e attraverso esame ecografico delle pleure. I 13/25 puledri (52%) che non hanno manifestato alcun sintomo di malattia e sono risultati negativi all'esame ecografico sono stati ritenuti sani e hanno costituito il gruppo di controllo. I puledri sani sono stati sottoposti a prelievi del sangue ogni 15 giorni per un periodo di due mesi (giugno-luglio), per la determinazione di WBC e fibrinogenemia. Il gruppo dei malati (12/25 soggetti pari al 48% degli esaminati) è stato definito tale sulla base dei rilievi clinici, dell'esame immunoistochimico del lavaggio broncoalveolare e sui rilievi ecografici; questi puledri sono stati controllati il giorno della diagnosi, quindi ogni 3 giorni fino alla risoluzione del caso.

⁽¹⁾ Titolare di Assegno di Ricerca.

⁽²⁾ Collaboratore esterno.

⁽³⁾ Dipartimento Scienze Veterinarie, Direttore Prof. Beniamino Tesei, Università di Camerino.

⁽⁴⁾ Dipartimento Clinica Veterinaria, Direttore Prof. Francesco Camillo.

Ricerca effettuata con fondi di Ateneo.

Si ringraziano i titolari dell'Az. Agr. La Piaggia (Galleno, Santa Croce) per aver messo a disposizione i puledri.

Si ringrazia Simona Rela per le analisi di laboratorio.

L'aumento della fibrinogenemia associato a valori nella norma dei WBC è un indice di patologia respiratoria in atto, ma non di Rodococcosi, perchè i soggetti che non hanno presentato rilievi ecografici e sintomatologia caratteristici (ascessi, murmure respiratorio aumentato e rumori crepitanti) sono guariti in seguito a terapia antibiotica aspecifica. Nei puledri con Rodococcosi sono stati osservati aumento dei WBC e della concentrazione della fibrinogenemia, associati a rilievi ecografici caratteristici. In 2/3 soggetti la terapia con eritromicina e rifampicina è risultata efficace, 1/3 è morto.

Parole chiave: puledro, rodococcosi, leucogramma, fibrinogenemia, ecografia pleurica.

SUMMARY

R. Equi infection affects horse, other mammals and human beings. Rodococcosis in foals causes suppurative broncopneumonia with abscesses, detected by radiography and ultrasonography. *R. equi* is a soil organism, Gram+, obligate aerobe, fixed, coprophilic, asporigen, facultative intracellular pathogen that persists in macrophages preventing phagosome-lysosome fusion. It grows in the manure and the foals became infected by oral and respiratory route transmission. The aim of this work was to verify the usefulness of some laboratory exams and pleural ultrasonography as diagnostic tools of *R. equi* infection in foals.

The study was performed during breeding seasons 2004-2005. Twenty-five foals aged 3,5-5,5 months were examined; 13 foals (52%) were considered healthy and used as control group. Blood samples were obtained every 15 days from each foal to measure WBC and plasma fibrinogen concentration and pleural ultrasound were performed every 15 days. Twelve foals (48%) showed illness (cough, depression, decreased growth, fever, etc.) and were included in the ill group. These foals were examined at the day of diagnosis and every 3 days until the recovery (laboratory exams and pleural ultrasound), 3 of 12 had rodococcosis.

In our study, the high value of plasma fibrinogen concentration with normal WBC could be secondary to respiratory disease, but not to *R. equi* infection. These patients did not showed specific clinical manifestations and ultrasonographic alterations (abscesses, higher respiratory murmur and crackle noises) and they needed only aspecific antibiotic therapy. Marked increase of WBC with moderately increase of plasma fibrinogen concentration might be considered a more diagnostic tool in rodococcosis, because in our study they were associated with specific ultrasonographic and clinical alterations. These foals needed the specific therapy (rifampin associated with erythromycin) for recovery.

Key words: foal, *R. equi* infection, WBC, plasma fibrinogen concentration, pleural ultrasonography.

INTRODUZIONE

Rhodococcus equi è un batterio Gram+ e è stato isolato per la prima volta in puledri in Svezia nel 1923 (Magnusson, 1923). È causa di una importante polmonite pio-granulomatosa cronica in puledri di età inferiore a 4 mesi (Meijer & Prescott, 2004). Raramente l'infezione può interessare altre specie animali. La Rodococcosi è un malattia enzootica che colpisce sia soggetti immunodepressi che soggetti sani

(Arya et al., 2004; Rabagliati et al., 2005; Kamboj et al., 2005; Mizuno et al., 2005). *R. equi* è un organismo tellurico con semplici bisogni nutrizionali per la crescita, che vengono perfettamente soddisfatti dal letame degli erbivori e dalle temperature estive in climi temperati. L'organismo è molto diffuso negli animali pascolatori, nel suolo ed è stato isolato dalle feci di erbivori, onnivori (ocche, cavalli, maiali, pecore, bovini e cervidi) e di uccelli selvatici (non in polli). Di contro non è stato mai isolato nelle feci del gatto, raramente in quelle di cane e uomo (Prescott, 1991). *R. equi* è un batterio aerobio obbligato per cui non si sviluppa nell'ambiente anaerobio del grande intestino degli erbivori (Barton & Hughes, 1984; Prescott, 1991) ed è quindi improbabile riscontrarlo come costituente della normale flora microbica enterica; tuttavia, può moltiplicarsi nell'ambiente più aerobio del piccolo intestino. Anche se non esiste un riscontro diretto dello sviluppo all'interno dell'intestino dell'erbivoro adulto, il microrganismo si moltiplica in quello dei puledri nelle prime 8 settimane di vita. Tale moltiplicazione cessa intorno alle 12 settimane, probabilmente per lo sviluppo della flora intestinale tipica dell'individuo adulto (Takai et al., 1986; Hughes & Sulaiman, 1987). La presenza diffusa del microrganismo nelle feci degli erbivori adulti sembra riflettere largamente la sua acquisizione con il mangime contaminato dal batterio (Takai & Tsubaki, 1985). La diffusa presenza di anticorpi per *R. equi* nella popolazione equina suggerisce che la stimolazione antigenica dell'organismo è un evento comune.

La moltiplicazione di *R. equi* nel suolo dipende dalle temperature ambientali (non si moltiplica a temperature di 10°C o meno), dalla presenza degli acidi grassi volatili del letame degli erbivori, e dal pH del suolo (Hughes & Sulaiman, 1987; Takai et al., 1986, 1987). Quindi differenze delle condizioni meteorologiche negli anni possono spiegare la variazione annuale del numero di casi diagnosticati nei puledri. La via aerogena sembra essere la maggior fonte di contagio dei puledri (Muscatello et al., 2006).

L'infezione da *R. equi* nei cavalli è endemica in alcuni allevamenti, sporadica in altri e non riconosciuta nella maggior parte. L'endemicità tende ad aumentare a causa dell'incremento della contaminazione ambientale con *R. equi* secondaria al management di allevamento (ad es. eccessiva concentrazione di animali e soprattutto puledri, pratiche di smaltimento del letame, temperature estive, tipo di terreno) (Prescott 1991).

R. equi è un patogeno intracellulare facoltativo, che sopravvive all'interno dei macrofagi e causa infiammazione pio-granulomatosa (Toyooka et al., 2005). I granulomi possono divenire purulenti e progredire verso la necrosi caseosa. In tutte le specie, il polmone è l'organo più frequentemente colpito, ma sono possibili anche massive infezioni intestinali a cui fanno seguito ulcere e linfadeniti (Johnson et al., 1983).

Il puledro è l'unico ad avere una predisposizione naturale alla manifestazione clinica. Soggetti con polmonite possono anche sviluppare colite ulcerativa e/o linfadenite granulomatosa mesenterica dopo ingestione di espettorato infetto. Sono state osservate anche sinoviti croniche. Occasionalmente, *R. equi* può diffondere dagli ascessi polmonari alle articolazioni intervertebrali, o ad altre articolazioni (specie quelle tra le ossa lunghe) o in altri siti del corpo, incluso l'occhio, dove causa infezioni

localizzate (Zink et al., 1986; Hillman et al., 1989; Olchoway, 1994; Giguere & Lavoie, 1994). Puledri con la forma polmonare mostrano un'elevata leucocitosi (13.000 cell/uL) ed iperfibrinogenemia (400 mg/dl) (Giguere et al., 2003).

Scopo della presente indagine è stato quello di verificare l'utilità clinica di alcuni esami di laboratorio e dell'esame ecografico delle pleure nella diagnosi precoce di Rodococcosi del puledro.

MATERIALI E METODI

Sono stati inclusi nell'indagine 25 puledri di età compresa tra 3,5 ai 5,5 mesi. I soggetti sono stati visitati giornalmente e sottoposti a prelievi di sangue ed esame ecografico delle pleure ogni 15 giorni per un periodo di due mesi (giugno-luglio) perché le condizioni ambientali e la suscettibilità dovuta all'età poneva i soggetti a rischio di Rodococcosi.

I prelievi sono stati effettuati dalla vena giugulare con provette Vacutainer® e raccolti in EDTA per l'esame emocromocitometrico (contacellule Genius, Menarini, Firenze) ed in citrato di sodio per la valutazione della concentrazione del fibrinogeno (SEAC, Firenze) mediante coagulometro KC1 (Mascia Brunelli, Italia). Gli esami di laboratorio sono stati eseguiti entro 2h dal prelievo. Sui risultati ottenuti sono state calcolate media, deviazione standard e mediana (Excel, Windows XP).

Dal momento in cui sono stati rilevati sintomi respiratori (febbre, depressione del sensorio, modificazioni del murmure vescicolare, tosse), i puledri sono stati sottoposti ad un esame ecografico delle pleure e al prelievo di sangue considerando il giorno del rilievo della sintomatologia polmonare come tempo 0 (T0). I controlli ematologici ed ecografici sono stati eseguiti ogni 3 giorni (T1-Tⁿ) per monitorare la terapia. Quindi il gruppo iniziale di 25 puledri è stato distinto a posteriori in un gruppo di 13/25 soggetti (52%) costituito da puledri che non hanno manifestato sintomi respiratori per tutto il periodo di osservazione (gruppo di controllo) ed uno di 12/25 soggetti (48%) che comprendeva quelli con segni clinici. Le ecografie sono state eseguite in tutti i puledri con un apparecchio portatile e sonda convex da 7,5 MHz (Esaote, Firenze, Italia), eseguendo lo scanning di tutti gli spazi intercostali, cranio-caudalmente e dorso-ventralmente.

In 3/12 (25%) soggetti appartenenti al gruppo dei malati e con immagini ecografiche compatibili con formazioni ascessuali è stato eseguito il lavaggio broncoalveolare (BAL); i campioni sono stati raccolti in provette con EDTA, conservati con metanolo (1:1) e sottoposti ad indagine immunoistochimica per la diagnosi di Rodococcosi. I campioni sono stati centrifugati a 3000gpm x 5 min ed il centrifugato è stato strisciato su vetrini elettrostatati (No-Frost, Bio-Optica, Milano, Italia), con tecnica utilizzata routinariamente in ematologia. Gli strisci sono stati colorati con Ematossilina Eosina e tramite metodo Papanicolaou per l'esame citologico. Gli strisci sono stati incubati sia con anticorpo monoclonale specifico per la forma patogena di *R. equi* usando la diluizione di 1:1000 in TBS/BSA, sia con anticorpo policlonale specifico per l'evidenziazione del lisozima (Zymed Inc, San Francisco, CA) usando la diluizione 1:250 nella medesima soluzione tampone (Szeredi et al., 2006). Alcuni strisci sono

stati lasciati con siero normale (omissione dell'anticorpo primario) ed altri trattati con anticorpo primario indifferente, rivolto cioè contro antigeni non espressi dalle cellule indagate, quali controlli negativi. L'esame immunoistochimico per la valutazione dell'espressione dell'antigene rodococcico in sede intramacrofagica è stata eseguita osservando 10 campi microscopici scelti in modo "random" in ogni preparato a 40X. La media aritmetica dei valori di cellule positive ottenuti è stata ritenuta come l'espressione media di cellule positive per quel determinato striscio-puledro.

RISULTATI

I risultati ottenuti per il gruppo dei sani sono riportati in Tab. I.

Tab. I. Media, deviazione standard (DS), mediana e range dei valori di WBC e fibrinogeno (<i>fib.</i>) per il gruppo dei soggetti sani. <i>Mean, standard deviation (SD), median and range of WBC and fibrinogen (fib.) in healthy subjects.</i>					
WBC 10³/ml	3,5 mesi 3,5 months	4 mesi 4 months	4,5 mesi 4 months	5 mesi 5 months	5,5 mesi 5,5 months
Media <i>Mean</i>	6,4	7,72	8,65	8,15	7,39
DS <i>SD</i>	1,18	1,93	1,91	1,86	2,06
Mediana <i>Median</i>	6,15	7,61	8	8,3	6,8
Range	4,2-8,7	3,8-11,4	6-12,3	4,2-10,6	3,9-10
Fib. mg/dl					
Media <i>Mean</i>	179	226,25	194,2	221,33	274,79
DS <i>SD</i>	58,9	58,03	51,03	61,84	2,06
Mediana <i>Median</i>	177,5	213,12	180	230,5	270,89
Range <i>Range</i>	69-222,6	151-344	107-283,4	123-293,1	153-387

Gli esami ecografici delle pleure effettuati sui puledri sani non hanno evidenziato presenza di ispessimenti pleurici, di immagini compatibili con formazioni ascessuali e di liquido in cavità pleurica.

Tre/12 (25%) soggetti del il gruppo dei malati hanno riportato i sintomi e rilievi auscultatori compatibili con la Rodococcosi (ipertermia, tosse, murmure vescicolare

aspro, crepitii con distribuzione regionale non simmetrica, accompagnati dal rilievo ecografico di formazioni ascessuali). I risultati ematologici a T0, hanno mostrato leucocitosi (soggetto 1: 4,5 mesi, 21,2 $10^3/\text{ml}$; soggetto 2: 5 mesi, 17,5 $10^3/\text{ml}$; soggetto 3: 5 mesi, 19,9 $10^3/\text{ml}$), fibrinogenemia normale o alterata (soggetto 1: 450 mg/dl; soggetto 2: 387 mg/dl, soggetto 3: 277 mg/dl). Dal T0 i soggetti sono stati sottoposti a terapia specifica con eritromicina (50 mg/kg/bid PO) e rifampicina (5 mg/kg/bid PO) e controllati ogni tre giorni. Ai controlli successivi al T2, la conta leucocitaria e la fibrinogenemia sono risultati nella norma in 2/3 (66,6%) puledri (n.ro 2 e 3). Nel soggetto n.ro 1, la leucocitosi e l'iperfibrinogenemia erano ancora presenti al T1 e T2 ed il puledro è morto prima del terzo controllo. L'esame citologico del BAL ha evidenziato un quadro infiammatorio misto in tutti e tre i soggetti e positività per Rodococcosi all'analisi immunoistochimica.

Gli altri 9/12 (75%) soggetti appartenenti al gruppo dei malati presentavano a T0 depressione dello stato del sensorio, tosse, scolo nasale muco-purulento, linfadenopatia sottomandibolare, ipertermia ed all'auscultazione murmure vescicolare rinforzato e rantoli diffusi uniformemente nei quadranti posteriori. I risultati degli esami di laboratorio a T0 sono riportati in Tab. II.

Tab. II. Media, deviazione standard (DS), mediana e range dei valori di WBC e fibrinogeno per il gruppo dei soggetti malati a T0. <i>Mean, standard deviation (SD), median and range of WBC and fibrinogen in subjects with respiratory problems at T0.</i>		
T0	WBC $10^3/\text{ml}$	Fibrinogeno mg/dl <i>Fibrinogen mg/dl</i>
Media <i>Mean</i>	11,3	327
DS <i>SD</i>	3,4	241
Mediana <i>Median</i>	13,4	183
Range <i>Range</i>	5,1-13,9	120-738,4

I rilievi ecografici hanno evidenziato ispessimento pleurico, ma assenza di formazioni ascessuali in tutti i controlli. Tutti sono stati sottoposti a terapia con gentamicina (6.6 mg/kg/sid IM) ed ampicillina sodica (20-25 mg/kg/sid IM) che ha risolto la sintomatologia in circa 10–15 giorni.

CONCLUSIONI

Solo in 3/12 puledri è stata emessa la diagnosi definitiva di Rodococcosi in base ai sintomi clinici, rilievo ecografico degli ascessi a ridosso delle pleure e positiva indagine immunoistochimica del liquido prelevato tramite BAL. L'esame citologico

non ha permesso di mettere in evidenza quadri infiammatori caratteristici e presenza di batteri morfologicamente compatibili con *R. equi*. Gli altri puledri sono stati colpiti da patologie respiratorie di natura batterica risolte con antibiotici non efficaci nei confronti della Rodococcosi.

Questa nostra esperienza ha indicato nei casi esaminati che la conta leucocitaria ed in minor misura la fibrinogenemia, sono indicatori precoci del processo flogistico in atto come riportato da AA (Giguere et al., 2003) e che l'ecografia delle pleure è un mezzo molto pratico per rilevare la presenza di ascessi immediatamente al di sotto delle pleure (Ramirez et al., 2004). L'associazione di leucocitosi, fibrinogenemia elevata e presenza di ascessi rilevati con l'esame ecografico fornisce elementi presuntivi importanti per la diagnosi di Rodococcosi e ancora più importanti per monitorare l'andamento della terapia specifica. Infatti nel soggetto deceduto questi parametri sono rimasti immutati nel tempo a dispetto della terapia e quindi riteniamo possano essere utili anche dal punto di vista prognostico.

Questi esami non permettono comunque di emettere la diagnosi definitiva della malattia, ma possono essere considerati molto importanti per sospettare la Rodococcosi in particolare in un allevamento dove la malattia è endemica. La diagnosi specifica può essere emessa solo attraverso l'eventuale esame necroscopico dei soggetti deceduti, esami istopatologici e nei puledri in vita attraverso l'esame culturale, test ELISA e PCR.

In conclusione, il management ottimale d'allevamento dove la malattia è o rischia di diventare endemica deve prevedere, in particolare nel periodo estivo, lo screening clinico di tutti i soggetti con controlli clinici giornalieri ed esami di laboratorio settimanali in modo da intervenire tempestivamente con le cure adeguate al caso.

BIBLIOGRAFIA

- ARYA B., HUSSIAN S., HARIHARAN S. (2004). *Rhodococcus equi* pneumonia in a renal transplant patient: a case report and review of literature. Clin. Transplant., 18(6): 748-752.
- BARTON M.D., HUGHES K.L. (1984). Ecology of *Rhodococcus equi*. Vet. Microbiol., 9: 65-76.
- GIGUERE S., LAVOIE J.P. (1994). *Rhodococcus equi* vertebral osteomyelitis in 3 quarter horse colts. Equine Vet. J., 26(1): 74-77.
- GIGUERE S., HERNANDEZ J., GASKIN J., MILLER C., BOWMAN J.L. (2003). Evaluation of white blood cell concentration, plasma fibrinogen concentration, and an agar gel immunodiffusion test for early identification of foals with *Rhodococcus equi* pneumonia. JAVMA, 222: 775-781.
- HILLMAN D., GARRETSON B., FISCELLA R. (1989). *Rhodococcus equi* endophthalmitis. Arch. Ophthalmol., 107(1): 20.
- HUGHES K.L., SULAIMAN I. (1987). The ecology of *Rhodococcus equi* and physicochemical influences on growth. Vet. Microbiol., 14: 241-250.
- JOHNSON J.A., PRESCOTT J.F., MARKHAM R.J.F. (1983). The pathology of experimental *Corynebacterium equi* infection in foals following intragastric challenge. Vet. Pathol., 20: 450-459.
- KAMBOJ M., KALRA A., KAK V. (2005). *Rhodococcus equi* brain abscess in a patient without HIV. J. Clin. Pathol., 58(4): 423-425.

- MAGNUSSON H. (1923). Spezifische infektiöse Pneumonie beim Fohlen. Ein Neuer Eitererreger beim Pferd. Arch. Wiss. Prakt. Tierheilkd., 50: 22-37.
- MEIJER W.G., PRESCOTT J.F. (2004). *Rhodococcus equi*. Vet. Res., 35(4): 383-396.
- MIZUNO Y., SATO F., SAKAMOTO M., YOSHIKAWA K., YOSHIDA M., SHIBA K., ONODERA S., MATSUURA R., TAKAI S. (2005). VapB-positive *Rhodococcus equi* infection in an HIV-infected patient in Japan. J. Infect. Chemother., 11(1): 37-40.
- MUSCATELLO G., GERBAUD S., KENNEDY C., GILKERSON J.R., BUCKLEY T., KLAY M., LEADON D.P., BROWNING G.F. (2006). Comparison of concentrations of *Rhodococcus equi* and virulent *R. equi* in air of stables and paddocks on horse breeding farms in a temperate climate. Equine Vet. J., 38(3): 263-265.
- OLCHOWY T.W. (1994). Vertebral body osteomyelitis due to *Rhodococcus equi* in two Arabian foals. Equine Vet. J., 26(1): 79-82.
- PRESCOTT J.F. (1991). *Rhodococcus equi*: an Animal and Human Pathogen. Clin. Microbiol. Rev., 4(1): 20-34.
- RABAGLIATI R., MORALES A., BAUDRAND R., JORQUERA J., ODDO D., GARCIA P., CARMONA M.C., CISTERNAS M., HUETE A. (2005). Necrotizing pneumonia due to *Rhodococcus equi* in non HIV immunocompromised host. Case report and review. Rev. Chilena Infectol., 22(2): 155-160.
- RAMIREZ S., LESTER G.D., ROBERTS G.R. (2004). Diagnostic contribution of thoracic ultrasonography in 17 foals with *Rhodococcus equi* pneumonia. Vet. Radiol. Ultrasound, 45(2): 172-176.
- SZEREDI L., MOLNAR T., GLAVITS R., TAKAI S., MAKRAI L., DENES B., DEL PIERO F. (2006). Two cases of equine abortion caused by *Rhodococcus equi*. Vet. Pathol., 43(2): 208-211.
- TAKAI, S., TSUBAKI S. (1985). The incidence of *Rhodococcus (Corynebacterium) equi* in domestic animals and soil. Jpn. J. Vet. Sci., 47: 493-496.
- TAKAI, S., NARITA K., ANDO K., TSUBAKI S. (1986). Ecology of *Rhodococcus (Corynebacterium) equi* in soil on a horsebreeding farm. Vet. Microbiol., 12: 169-177.
- TAKAI, S., FUJIMORI T., KATSUZAKI K., TSUBAKI S. (1987). Ecology of *Rhodococcus equi* in horses and their environment on horse-breeding farms. Vet. Microbiol., 14: 233-239.
- TOYOOKAK., TAKAIS., KIRIKAE T. (2005). *Rhodococcus equi* can survive a phagolysosomal environment in macrophages by suppressing acidification of the phagolysosome. J. Med. Microbiol., 54(11): 1007-1015.
- ZINK, M.C., YAGER, J.A., SMART N.L. (1986). *Corynebacterium equi* infections in horses, 1958-1984: a review of 131 cases. Can. Vet. J., 27: 213-217.